第 37 卷第 6 期
2017 年 3 月
生 态 学 报
ACTA ECOLOGICA SINICA
Vol.37,No.6
Mar.,2017

DOI: 10.5846/stxb201510292187

荀二娜,赵骥民,郭继勋,张彦文.花蜜微生物及其生态功能研究进展.生态学报,2017,37(6):1757-1768.

Xun E N, Zhao J M, Guo J X, Zhang Y W.Nectar-dwelling microorganisms and their ecological functions.Acta Ecologica Sinica,2017,37(6):1757-1768.

花蜜微生物及其生态功能研究进展

荀二娜[1,2],赵骥民[2],郭继勋[1],张彦文[1,2,3,*]

1 东北师范大学草地研究所,长春 130024

2 长春师范大学生物系,长春 130032

3 辽东学院农学院,丹东 118003

摘要:花蜜是虫媒植物提供给传粉者最有效的报酬,对花蜜特征介导的植物-传粉者相互关系的研究已成为当今传粉生物学研究中最活跃的领域之一。开花植物分泌的原始花蜜是无菌的,不过一些微生物可经由空气传播至花蜜或(和)通过与传粉者的喙接触而聚集于花蜜中,并利用花蜜中的营养物质进行快速繁殖。花蜜的高渗透压环境导致花蜜中微生物(酵母菌,细菌)的物种多样性相对较低。此外,某些生物(传粉者组成,微生物间的竞争)与非生物因素(渗透压,糖组成,次生代谢物质,抗菌化合物,可利用氮源,温度,pH)也可影响花蜜中微生物群落的形成。花蜜中微生物的代谢活动能够改变花蜜物理(温度,粘度)与化学(pH,H_2O_2含量,糖组成和浓度,氨基酸组分和浓度,以及气味)特性,进而影响传粉者的访花行为与植物的繁殖适合度。因而,对花蜜中微生物及其生态功能的研究近年来颇受传粉生物学家的关注。在总结已发表研究成果的基础上,提出今后的研究有必要结合分子生物学与化学分析技术,以进一步揭示影响花蜜中微生物群落的潜在因素的作用机制,同时对花蜜微生物改变花蜜的物理、化学特性及植物-传粉者之间相互作用的可能原因进行更详尽的阐释,特别是对花蜜微生物在生态系统中所发挥的生态功能进行进一步的研究与认识。

关键词:花蜜微生物;花蜜特征;传粉者行为;植物繁殖适合度

Nectar-dwelling microorganisms and their ecological functions

XUN Erna[1,2], ZHAO Jimin[2], GUO Jixun[1], ZHANG Yanwen[1,2,3,*]

1 *Institute of Grassland Science*, *Northeast Normal University*, *Changchun* 130024, *China*

2 *Department of Biology*, *Changchun Normal University*, *Changchun* 130032, *China*

3 *School of Agriculture*, *Eastern Liaoning University*, *Dandong* 118003, *China*

Abstract: Floral nectar, a sweet, aqueous secretion that consists mainly of sugars and to a lesser extent amino acids, is an effective reward that entomophilous plants could provide for their pollinators. Plant-pollinator relationships mediated by nectar characteristics have been recently studied in pollination biology. Floral nectar is initially sterile, but some yeasts and bacterial species survive in floral nectar when they have been dispersed into nectar via air or by flower-visiting insects such as pollinators. The identification of microorganisms in floral nectar from broad-scale surveys has shown that nectar yeasts are widespread and occur in a wide range of habitats. No such surveys are currently available for bacteria, but limited studies suggest that bacteria may also be widespread in nectar. However, high sugar content and consequentially low water activity that characterize the nectar of many plant species limit the number of microbial species that are capable of surviving and proliferating in the harsh environment of nectar, leading to species-poor communities with one or a few culturable species per nectar sample. Other factors affecting nectar-dwelling microorganism communities are nitrogen availability, pH, sugar composition, temperature and the presence of secondary or antimicrobial compounds. The presence of yeasts and bacteria in

基金项目:国家自然科学基金项目(30970200, 31170354)

收稿日期:2015-10-29; **网络出版日期**:2016-08-02

*通讯作者 Corresponding author.E-mail: yanwen0209@163.com

nectar decreased sugar concentrations and altered sugar ratios. Besides, the metabolic activity of nectar-dwelling microorganisms affected other floral attractive traits, including temperature, scent and amino acid content. In some cases, changes in physical and chemical properties of nectar affected on pollinator behavior and as a result on plant reproductive success. Therefore, nectar-dwelling microorganisms and their ecological functions are of great interests among pollination biologists. In the future, molecular and chemical analysis technologies should be combined to further reveal the mechanisms of potential factors that might affect the shaping of nectar-dwelling microorganism community, to fully elucidate the possible mechanisms that nectar-dwelling microorganisms alter nectar physico-chemical characteristics and the plant-pollinator relationships, and to further understand the ecological roles that nectar-dwelling microorganisms might play in different ecosystems.

Key Words: nectar-dwelling microorganisms; nectar characteristics; pollinator behavior; reproductive fitness

生物系统是基于自然界中的各物种间的相互作用网络,而物种间的相互作用通常由建立这一作用关系的物种的特征来介导[1]。为更充分地了解生态群落的结构与动态,研究者们一直以来主要研究不同物种间的两两相互作用。不过,作为群落的成员,不同物种必须同时直接或间接地融入群落中的正、负相互作用中。因此,如果研究者仅研究物种间两两相互作用,就可能会因为忽略了由物种个体多少或(和)物种特征间接介导的相互作用而限制了对物种及群落动态的全面研究[1-2]。特征间接介导的相互作用表现为由于第三物种的介入改变了一方物种的某些特征(包括行为特征、生长发育特征、形态特征或生理特征的可塑性响应)而使这一物种对另一方物种的作用发生了相应变化[3]。

植物与自然界中的其它物种间普遍存在着敌对与互惠等多种相互作用,而这些由其它物种共享的宿主植物的特征来介导的相互作用会增强植物特征的可塑性响应,进而改变植物-动物的相互作用[4],使特征间接介导的相互作用在不同植物群落中普遍存在。以植物-传粉者互惠相互作用为例, 植物能否成功吸引传粉者为其传粉通常受花部特征的影响,而植物花部特征的改变部分取决于敌对者(食叶者,食花者及盗蜜者等)的存在与否以及敌对者的活动[5-7]。食叶者的存在与活动不仅会影响植物的花部“广告”特征,如花大小[5,8]和花气味[9],而且可能会改变传粉者可利用的花部报酬的数量、质量及化学特征[10-11]。由此可见,在开花植物-传粉者的双向互惠作用系统中,由于第三方参与而改变植物花部“广告”及花部报酬的现象可能对传粉者的觅食行为及植物适合度起到举足轻重的作用。

花蜜是开花植物的蜜腺分泌的富含糖类和氨基酸等营养成分的汁液,被视为介导植物-传粉者相互作用的最重要能量资源,也是易受第三方参与而发生改变的介导植物-传粉者双向互惠作用的重要特征之一[12]。不过,花蜜可能会吸引一些肉眼可见或不可见的利用花蜜作为能源物质的非传粉者与合法访花者进行竞争[7,13-14]。花蜜中富含糖类等营养成分,因而有利于微生物(如酵母菌、细菌)的生长与繁殖。无论早期[15-17]还是近 10 年[14,18-22]微生物学家及传粉生物学家对花蜜的研究都表明,微生物在不同植物的花蜜中普遍存在,且酵母菌密度与细菌密度分别可高达 10^6 个/mm^3[23]和 10^3 CFUs /mm^3[21]。不过,由于花蜜中含有较高浓度的糖(高渗透压)及次级化合物与蛋白质等抗菌成分,所以出现在花蜜中的微生物的物种多样性一般较低[24]。近年来,随着一些生态学家对花蜜微生物的进一步研究发现,某些接种到花蜜中的细菌和酵母菌能够改变花蜜的部分化学组成,进而影响某些传粉者(蜜蜂,熊蜂,蚂蚁及蜂鸟)的访花行为以及植物的有性繁殖[18,25-28]。尽管长期以来,国内外的研究者对不同植物花蜜中的微生物进行了调查,并对影响花蜜中微生物多样性及丰度的潜在因素进行了分析[19-20,22-23,29-30],同时也在不断研究花蜜中微生物对花蜜特征,昆虫访花行为及植物-传粉者相互作用的影响机制[18,23,26-28],但对于影响花蜜中微生物群落形成的潜在因素以及植物-花蜜微生物-传粉者之间的相互作用机制的研究仍处于探索阶段,至今还没有总结出具有说服力的通用性的结论[31]。

本文结合近年来有关花蜜微生物的相关研究,将国内外对花蜜微生物多样性,花蜜微生物对花蜜特征、访花者行为及植物繁殖适合度的潜在影响进行了综述,主要探讨了以下 4 个方面的问题:1)花蜜中主要微生物

的种类;2)影响花蜜中微生物群落的潜在因素;3)花蜜中微生物(酵母菌和细菌)对花蜜物理、化学特征的影响;4)花蜜中微生物对传粉者行为及开花植物繁殖适合度的影响。本综述主要针对花蜜中普遍存在的酵母菌和细菌两类微生物进行了讨论。

1　花蜜中的主要微生物

早在 19 世纪后期,微生物学家已发现微生物在植物花蜜中普遍存在[15-17,32]。不过,直到 20 世纪 70 年代,随着传粉生物学领域对花蜜的深入研究,花蜜中的微生物才引起了传粉生物学家的关注[12,33-34]。Baker 夫妇[12]指出“能够在一些暴露了一段时间的花蜜中发现耐高渗酵母和某些细菌”,并且 Kevan 等[33]曾报道“酵母在花蜜中的存在是众所周知的”。特别是最近 10 年,花蜜中微生物的群落结构及其生态功能已正在逐渐得到较详尽的探讨[18,25-28,35-36]。

通常情况下,开花植物分泌的原始花蜜是无菌的[18,37],不过某些微生物(主要是酵母菌和细菌)可经由空气传播至花蜜中或(和)通过与传粉者(蜂,鸟及蚂蚁等)的喙接触而聚集于花蜜中,并利用花蜜中的营养物质进行快速繁殖[18,23,26,38-51]。目前为止,研究者已自毛茛科、唇形科、夹竹桃科、马钱科、蔷薇科、芸香科、茄科、爵床科、石竹科、鸢尾科及兰科等植物的花蜜中分离并培养出了酵母菌和细菌[14,20-21,35,42]。

1.1　花蜜中的酵母菌

微生物学家对存在于植物花蜜中酵母菌的研究始于 19 世纪后期[32],后续的研究主要着重于花蜜中酵母菌的分布[16]、个体生态学[17]及生理特征[43]等。已发表的研究发现植物花蜜中的酵母菌发生率相对较高[16,23,38,44-56]。Jimbo[16]在调查日本地区 23 种植物(14 科)花蜜中的酵母菌分布时发现所采花蜜样品(273 朵花)中酵母菌的发生率为 44%,并且对每种植物来说,花蜜中酵母菌的发生率介于 0%—100%,平均发生率约为为 47%。在调查印度西北部的 9 种栽培植物花蜜中的酵母菌分布时,Sandhu 和 Waraich[44]发现花蜜中酵母菌的发生率在 39.5%—92.1%之间,平均发生率为 67.8%。通过调查生长于南非森林与草地的 40 种植物(18 科)花蜜中的酵母菌,de Vega 等[38]统计得出单个植株(316 株)及花蜜样品(635 朵花)中酵母菌的发生率分别为 51.3%和 43.2%。Herrera 等[23]对西班牙西南部 103 种植物及墨西哥尤卡坦半岛 37 种植物的花蜜酵母菌发生率进行了调查,结果发现西班牙西南部植物的花蜜酵母菌发生率为 32%(740 朵花),而尤卡坦半岛植物的酵母菌发生率甚至高达 54.4%(675 朵花)。Pozo[45]对西班牙南部 105 种植物(25 科)花蜜中酵母菌的分布模式进行了长达 3 年(2008—2010)的调查,结果发现花蜜样品中酵母菌的发生率为 39.8%(2300 朵花),物种水平酵母菌的平均发生率为 37.4%(105 种)。Mittelbach 等[46]调查了康加那利群岛上鸟媒植物花蜜中酵母菌的组成,发现 38%的花蜜样品中(480 朵花)存在可培养的酵母菌。由此可见,不同地区植物花蜜中酵母菌的平均发生率较高(30%—70%)。

此外,已发表的研究还表明花蜜中酵母菌密度通常较大,可高达 10^5—10^6 个/mm^3, 平均密度(10^3—10^4 个/mm^3)在大多植物花蜜中常见[22-23,38-39]。然而,花蜜中酵母菌的物种多样性通常较低[23,35,39,42,47-48],一般每一花蜜样品中平均含 1.2 种酵母菌[51],主要隶属于子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota)。其中隶属于子囊菌门中的梅奇酵母科(Metschnikowiaceae)的海洋酵母(*Metschnikowia reukaufii* 及 *Metschnikowia gruessi*)在所研究过的植物花蜜中最为常见,以至于人们认为嗜高渗子囊菌是植物花蜜中的主导酵母菌,而出现在花蜜中的担子菌门酵母菌是由于花蜜受到植物其它部位(如叶表面)的感染所致[18]。不过,最近的一篇报道[46]发现对于康加那利群岛上鸟媒植物花蜜中存在的酵母菌而言,子囊菌门的酵母菌通常易出现在蔗糖主导的花蜜中,而低浓度的己糖主导花蜜则利于担子菌门酵母菌在此种花蜜中的孕育。此外,隶属于子囊菌门的假丝酵母属(*Candida*)与隶属于担子菌门的红酵母属(*Rhodoturula*)、隐球菌属(*Cryptococcus*)及掷孢酵母属(*Sporobolomyces*)的酵母菌在植物花蜜中也常常出现,不过发生率相对较低[31]。隶属于这些属的大多数酵母菌物种通常在花中出现,且并非为花蜜特有种,因而被认为可能是通过与花冠或访花昆虫接触而侵入到花蜜中[40]。

尽管花蜜中酵母菌的密度与多样性受到了研究者的普遍关注,但花蜜中酵母菌的时空分布更是近年来微生物学家与传粉生态学家关注的焦点[22,49-51]。考虑到花蜜中酵母菌的空间分布模式,已发表的研究发现同种植物花蜜中酵母菌的发生率、密度及物种多样性在不同地区[23]、同一地区不同居群间[22,50-51]、同一居群不同植株间[22,45,51]、同一植株的不同花间[45,49,51]及同朵花的不同蜜腺间[45,51]存在不同程度的差异。此外,已发表的研究还表明同一地点的不同物种间的酵母菌发生率、密度及多样性也存在差异,并且这种差异很可能是因为访花者的不同引起的[22-23]。而就花蜜中酵母菌的时间分布而言,研究表明同种植物花蜜中酵母菌的发生率、密度及多样性在不同年际[22,45,51]、不同开花时期[18,45]及不同性期[14]均存在不同程度的差异。Pozo[45]对生长于西班牙东南部的一种冬季开花的铁筷子属植物(*Helleborus foetidus*)花蜜中的酵母菌进行了连续 2a(2008—2009)的调查研究,发现花蜜中酵母菌的发生率及密度在不同居群(海拔高度不同)间的差异很大,但花蜜酵母菌在不同居群间的分布随海拔高度的变化不存在一致的分布模式。此外,他还发现花蜜酵母菌密度在同一居群的不同植株间不存在统计学上的显著差异,但在植株以下水平(同一植株不同花间及同一朵花不同蜜腺间)有显著差异。在调查的 2 年内,花蜜中酵母菌的发生率(2008：45%；2009：75%)及密度(2008：4×10^4个/mm^3；2009：2×10^5个/mm^3)差异很大,且花蜜中酵母菌的发生率与密度与采集日期显著相关。而对生长于德国的该种植物花蜜酵母菌的调查发现,花蜜酵母菌的发生率在早花期(4%)与盛花期(11%)不同[18]。同时 Herrera 等[14]发现 *Helleborus foetidus* 花蜜中酵母菌发生率在雌期(60%)、雌雄期和雄期(100%)不同。对于花蜜中酵母菌在 *Helleborus foetidus* 中的空间与时间分布模式差异,Pozo 等[51]认为很可能是由传粉者组成及活动引起的。

1.2 花蜜中的细菌

除酵母菌外,细菌也是花蜜中比较常见的微生物[31,52]。研究表明,花蜜中细菌的发生率也相对较高,比如,地中海及南非地区植物花蜜中细菌的调查结果显示花蜜中细菌的发生率为 20%—80%[20,36]。Álvarez-Pérez 等[20]对南非地区 27 种植物(12 科)花蜜中细菌的调查结果显示,花蜜样品(71 朵花)中细菌的发生率为 53.5%,细菌在不同种植物花蜜中的发生率为 77.8%。花蜜中细菌的密度在已发表的研究中最高可达 10^4 CFUs/mm^3[21],平均密度为 10^2 CFUs/mm^3[31]。Fridman 等[21]在研究分布于以色列北部的植物花蜜中细菌时发现,不同种类的植物花蜜中细菌的种类存在差异。此外,与花蜜中酵母菌多样性类似,花蜜中细菌多样性也相对较低,通常每一花蜜样品中平均约含 1.4 种细菌[35],主要隶属于放线菌门、变形菌门和厚壁菌门[19-21,47,50,53],还有拟杆菌门的 *Terrimonas*[47],Cryseobacterium[21]和 *Flavobacteriaceae* sp.[35] 3 个属。令人惊讶的是,花蜜中的细菌通常与酵母菌(如梅奇酵母)共存于花蜜中[35],Álvarez-Pérez 等[19]推测这种共存模式可能是一种互补营养利用模式。研究者自花蜜中分离出的细菌大都隶属于变形菌纲,其中包括隶属于莫拉菌科(Moraxellaceae)的 2 种新型细菌(*Acinetobacer nectaris* 和 *A. boissieri*)[19]和隶属于肠杆菌科(Enterobacteriaceae)的 4 种细菌(*Rosenbergiella nectarea*, *R. australoborealis*, *R. collisarenosi* 和 *R. epipactidis*)[29,54]。

聚集于花蜜中的细菌通常具有特殊的生理特征,如 Álvarez-Pérezden 等[35]发现某些花蜜细菌能够在含 30%的 H_2O_2的培养液中生长,推测这些细菌体内可能含有过氧化氢酶;某些花蜜细菌还能够在低氧条件下生长,推测其可能为微需氧型细菌;某些细菌能耐受 10%—30%(mg/100mL)的蔗糖浓度,推测其可能为耐渗菌。

综合已发表的关于花蜜细菌的文献可以看出,花蜜中细菌具有以下特点:1)细菌存在于大多数植物的花蜜中,但物种多样性较低[20-21];2)不同植物的花蜜中通常聚集着独特的细菌群落[21];3)花蜜中可鉴定出新型细菌[19];4)花蜜中最常见的细菌隶属于变形菌纲;5)聚集于花蜜中的细菌通常具有很强的生理适应特性[19]。

2 影响花蜜微生物群落的因素

迄今为止,已发表的有关花蜜中微生物的研究表明,花蜜中通常聚集着一些在系统发育树上处于一个分支、物种多样性较低的酵母菌和细菌群落[24,55],且微生物在花蜜中的发生率、密度及多样性存在时空上的变

化[31,51]。由此推测花蜜中微生物群落很可能受某些特定因素的影响。由于微生物在花蜜中的存活可能受花蜜可利用度的影响,而微生物是否在花蜜中出现则取决于传粉者或空气的散布[22,25,40,49],因而结合以往的研究,本研究认为影响花蜜微生物群落的因素主要源自生物和非生物两个方面。

2.1　生物因素

一般认为,微生物可通过空气传播和(或)访花者携带两种方式出现在花蜜中,而由传粉者口器携带为最常见的方式[22,25,31,49],因而传粉者组成及传粉者活动对花蜜中微生物群落的形成具有重要影响。不过,某种泌蜜植物的地理位置、花蜜特征及开花密度等也会影响传粉者的组成及访花行为,进而可能会改变该种植物花蜜中的微生物群落[45,49,51]。Belisle 等[49]调查了蜂鸟传粉植物沟酸浆(*Mimulus aurantiacus*)的花蜜中真菌微生物的空间分布与光照强度、开花密度、植株密度及单花花蜜量的相关性,结果发现花蜜中真菌微生物的发生率仅与花密度间存在并不十分严谨的正相关性。另有研究表明,某些植物花蜜中酵母菌发生率与传粉者组成显著相关[23,38]。Pozo 等[51]在研究一种铁筷子属植物——*Helleborus foetidus* 的花蜜酵母菌时空分布模式时发现传粉者组成及活动似乎是引起花蜜酵母菌发生率、密度及多样性存在时空分布差异的主要因素。除此之外,他们还在所选择的某一居群中观察到访花的熊蜂种类及熊蜂活动与这一居群中的花密度呈正相关性,因而推测花密度可能会间接影响酵母菌在不同花间的散布及在花蜜中的繁殖。鉴于不同微生物之间生长速率的差别,Mittelbach 等[46]认为单花期长短也是影响花蜜微生物群落形成的因素之一,因为他们发现担子菌门酵母菌的生长速率较子囊菌门的慢。关于某些生物因素(单花期长短、花密度、传粉者组成及传粉者活动)对花蜜细菌发生率、密度及多样性影响的研究尚未见报道,但很可能与这些生物因素对酵母菌的影响趋势一致。

另外,优先出现在花蜜中的微生物的代谢活动及不同种类微生物之间的竞争作用也可能会影响花蜜中微生物群落的形成[31,56]。花蜜中先到微生物可通过降低花蜜糖浓度而减弱花蜜渗透压,从而利于非耐高渗型微生物在花蜜中的存活,使花蜜中微生物多样性增加[14]。Peay 等[24]发现花蜜中不同酵母菌间为争夺资源会激烈竞争,且亲缘关系越近,竞争越激烈。这种物种间竞争很可能会将处于劣势的酵母菌从花蜜中淘汰,从而改变花蜜中微生物群落的构成。

2.2　非生物因素

花蜜中微生物群落的形成可能是两种相互矛盾的驱动力之间相互作用的结果。一方面,富含各种营养的花蜜[57]是微生物生长的理想介质;另一方面,花蜜的高渗透压特性及所含的抗菌化合物等[42,58-60]可能会限制花蜜中微生物的种类从而影响花蜜中微生物群落的构成[55],也就是说,花蜜中的一些“过滤机制”可能是导致花蜜微生物多样性偏低的原因。“花蜜过滤假说”认为花蜜中的高含糖量(与其相关的低水活度)、次生代谢物质及抗菌蛋白等可能对迁入花蜜中微生物的生存及繁殖具有很大的影响[55,58,61],因而不同植物花蜜中聚集着不同的微生物群落,而这些微生物群落一般是由对花蜜具有最佳适应能力的菌株组成[55]。尽管大多数研究者认为花蜜中所含的次生代谢物质(如多酚化合物、生物碱、糖苷及过氧化氢)能够抑制花蜜中微生物的生长繁殖,不过,研究发现花蜜中的生物碱及糖苷对花蜜中几种常见的微生物并未表现出抑制作用[40,42]。Pozo 等[40]推测可能是因为使用的商业生物碱及糖苷与花蜜中自然存在的有差异,或者是次生代谢物质联合使用时才能对微生物起到抑制效果。而过氧化氢对某些细菌未起到抑制作用的原因可能是细菌体内含有过氧化氢酶。因此,花蜜中的高含糖量被认为对微生物具有更强的“过滤”作用。花蜜是一种具有中等或较低水活度[62]的生境,因而可能会限制一些非耐高渗型微生物的生长[63],这也可以解释为什么花蜜中的酵母菌大多隶属于耐高渗的子囊菌门,而极少数隶属于担子菌门(常出现于植物叶表面、水及空气中)[45]。此外,Carter 和 Thornburg[64]发现烟草中的 5 组花蜜蛋白(Nectarins Ⅰ—Ⅴ)能够通过花蜜氧化还原循环而起到抗菌作用。

处于不同生境的微生物对碳和氮的同化模式存在差异[24,40]。花蜜通常含碳量较高、含氮量较低[57],因而花蜜中的碳、氮比率也是影响花蜜中微生物群落组成的非生物因素之一。Pozo 等[31]观察到海洋酵母菌(*Metschnikowia reukaufii*)倾向于聚集在散落于花蜜中的花粉粒附近,并且花蜜中酵母菌的密度与花粉粒数量

呈正相关关系,这可能是因为花蜜中的花粉粒会萌发并释放出氨基酸,为微生物的生长提供必需氮源。由此可见,花蜜中氮含量是花蜜中微生物生长的限制资源。

除此之外,某些环境因素(如空气相对湿度、降雨及空气温度)也可能影响花蜜中微生物群落的形成[23,49,65]。空气相对湿度会影响花蜜的分泌速率及花蜜糖浓度[66]进而直接(高渗透压)或间接(通过影响访花者访花行为)影响花蜜中的微生物群落。降雨频率会改变传粉者的觅食模式[67],从而可能影响微生物在花蜜中的散布[37]。空气温度不仅能够影响花蜜分泌及花蜜浓度[68],而且还会影响植物的物候及花密度[69],进而直接或间接(通过影响传粉者访花行为)影响花蜜微生物群落的形成。温度还会影响传粉者的组成及访问速率[67],进而影响花蜜中微生物的种类及散布。更为重要的是,温度影响微生物的生存和生长[65,70],而花蜜温度在不同季节,不同日期,甚至一天中的不同时间段存在差异,因而推测花蜜中微生物应该具备在较宽温度范围内快速生长的能力。Pozo 等[45]通过实验表明花蜜中隶属于梅奇酵母菌属(*Metschnikowia*)的 3 种常见酵母菌(*M. Kunwiensis*, *M. reukaufii*, *M. gruessii*)能够在 8—30℃条件下快速生长。此外,Wiens 等[71]发现花蜜中会发生发酵作用,因而推测花蜜中的可利用氧及乙醇的累积可能也是影响花蜜中微生物群落的环境因素。

3 花蜜微生物对花蜜物化特征的影响

Raguso[72]曾提到"微生物生态学是化学生态学"。已发表的研究也表明,聚集在花蜜中的微生物能够改变花蜜的物理、化学特征,特别是可以改变花蜜温度[73]和粘度[74]、花蜜 pH、花蜜中 H_2O_2 含量和糖组成及浓度[27-28,63,75]、花蜜中氨基酸组分和浓度[24,33]以及花蜜气味[76-77]。

微生物在花蜜中的生命活动(发酵代谢活动及发酵-氧化代谢活动)能够产生大量的热而使花蜜温度升高[73]。Herrera 和 Pozo[73]探究了海洋酵母菌(*Metschnikowia reaukaufii*)对一种冬季开花的铁筷子属植物(*Helleborus foetidus*)的蜜腺内温度变化($\Delta T_{nect} = T_{nect} - T_{air}$) 的影响。他们发现接种酵母菌后,蜜腺温度会有所升高,并且蜜腺内温度的增加量(ΔT_{nect})与接种酵母菌的密度呈显著正相关。当接种的酵母菌密度高于 10^5 个/mm^3时,蜜腺内温度会增加 6℃。对于冬季采食花蜜的昆虫而言,由于微生物代谢活动而提供的相对较高的花蜜温度可降低昆虫体温调节的能量消耗,同时也可以降低花蜜粘度而使昆虫易于吸食[78]。

迄今为止,仅有 2 篇已发表的研究同时报道了微生物(细菌和酵母菌)对花蜜 pH、糖浓度及 H_2O_2浓度的影响[27,28]。Vannette 等[27]通过向沟酸浆(*Mimulus aurantiacus*)花蜜中接种常见花蜜细菌(*Gluconobacter* sp.,10^4个/mm^3)和花蜜酵母菌(*Metschnikowia reukaufii*,10^4个/mm^3)来探究花蜜微生物对花蜜化学的影响。他们发现无论接种细菌还是酵母菌,花蜜中 H_2O_2浓度降低了约 80%。接种细菌的花蜜 pH 降低了 5 个单位(H^+浓度增加 10^5),总糖浓度与蔗糖浓度分别降低了 27%和 35%;而接种酵母菌的花蜜 pH 降低了 2 个单位,总糖浓度与蔗糖浓度分别降低了 16%和 17%。此外,接种细菌的花蜜中的葡萄糖浓度降低了 64%,果糖浓度增加了 42%;而接种酵母菌的花蜜中的葡萄糖浓度和果糖浓度几乎未发生改变。Good 等[28]在实验室条件下向人工花蜜中接种了细菌(*Asaia astilbes* 和 *Erwinia* sp.,30CFUs/mm^3)和酵母菌(*Metschnikowia reukaufii*,10^4 个/mm^3),结果发现接种的 3 种微生物均显著降低了花蜜的 pH,但细菌降低的幅度较酵母菌大。与对照相比,3 种微生物对花蜜中 H_2O_2浓度及蔗糖浓度的影响并不显著。花蜜中的葡萄糖和蔗糖浓度在接种 *A. astilbes* 时显著升高,而在接种 *M. reukaufii* 和 *Erwinia* sp.时并未表现出显著提高。不过,对野外花蜜成分的分析发现,花蜜中的子囊菌类酵母菌能够显著改变花蜜中蔗糖、葡萄糖及果糖的百分比,通常降低蔗糖浓度,提高果糖/葡萄糖比率[14,38,75]。Canto 和 Herrera[75]野外调查了墨西哥 22 种植物花蜜中糖浓度与酵母菌密度间的关系,发现仅部分植物花蜜中的果糖、葡萄糖和蔗糖浓度会随酵母菌密度的升高而显著降低。他们推测与酵母菌密度相关的花蜜糖浓度变化可能在一定程度上具有物种特异性,因为不同植物花蜜中的酵母菌群落可能不同。

花蜜中微生物的出现还会改变花蜜中某些氨基酸的含量[24]。Peay 等[24]测定了沟酸浆(*Mimulus aurantiacus*)花蜜中氨基酸含量在接种酵母菌前后的变化,结果发现花蜜中常见酵母菌(*Candida floricola*, *Metschnikowia koreensis*, *M. kunwiensis* 和 *M. reukaufii*)能够显著降低沟酸浆花蜜中脯氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、

精氨酸、丙氨酸、缬氨酸及酪氨酸的浓度,由此推测氨基酸为花蜜中微生物的生长提供必需氮源。

花蜜微生物不仅能够改变花蜜 pH、H_2O_2 含量、氨基酸含量及糖浓度和组成,而且能够改变花蜜气味[76-77]。Raguso[79] 发现某些植物的花蜜能够散发出酒香味。尽管植物的花瓣能够产生一些挥发性有机物(VOCs)而使不同植物的花蜜散发出不同的气味,而最近的一篇报道为花蜜中的微生物能够改变花蜜气味提供了新的证据[80]。通过比较加罗林雪轮(*Silene caroliniana*)的未经昆虫访问的花蜜(无菌花蜜)和经昆虫访问的花蜜二者之间的芳香化合物,Golonka 等[80] 证实该种植物仅能产生极少数的芳香化合物,而花蜜中存在微生物时能够检测到更多的芳香化合物,特别是隶属于梅奇属的酵母菌能够产生乙醇、异丁醇、3-甲基-1-丁醇及 2-甲基-1-丁醇等挥发性脂肪醇,而这些脂肪醇是加罗林雪轮花部酒香味的主要来源。

4　花蜜微生物对传粉者行为及植物适合度的影响

花蜜是植物提供给传粉者重要的能量来源[57],但聚集在花蜜中的微生物能够通过改变花蜜的某些物理与化学特征而影响花蜜的质量[14,24,37-38,73,81]。由此推测花蜜微生物也能够影响传粉者的行为,进而影响植物的繁殖适合度。已发表的研究也证实了花蜜微生物能够影响传粉者行为、植物-传粉者间的互惠关系以及植物的繁殖适合度[31]。

有关花蜜微生物影响传粉者行为的研究始于 20 世纪末期[33]。Kevan 等[33] 的研究发现蜜蜂并不能完全识别接种与未接种酵母菌的花。不过,此研究中既未提及接种酵母菌的密度,也未测定花蜜接种酵母菌后的特征变化。Ehlers 和 Olesen[82] 则发现火烧兰(*Epipactis helleborine*)花蜜中的某些微生物能够产生高浓度的乙醇而影响黄蜂的觅食行为。此外,熊蜂对接种酵母菌的飞燕草(*Delphinium barbeyi*)花蜜表现出觅食偏爱,具体表现为访问和探测了更多接种酵母菌的花[36]。Good 等[28] 探查了自蜂消化道中分离出的 3 种细菌(*Asaia astilbis*, *Erwinia tasmaniensis* 和 *Lactotobacillus kunkeei*)和 1 种酵母菌(*Metschnikowia reukaufii*)对蜜蜂觅食行为的影响,结果发现蜜蜂会避开访问接种 3 种细菌的花(原因可能是细菌改变了花蜜的化学成分和味道),而酵母菌并未影响蜜蜂的觅食偏爱。Pozo[45] 发现熊蜂更倾向于访问接种酵母菌的花蜜时曾推测可能是酵母菌本身可为熊蜂提供所需的蛋白质和氨基酸。同时他还认为熊蜂对接种不同酵母菌的花蜜表现出不同觅食偏爱的原因可能是熊蜂可根据酵母菌细胞大小直接探测出花蜜中酵母菌的种类,或是熊蜂能够通过酵母菌发酵产生的醇类或其它挥发性物质而探测和识别不同酵母菌。

最近 5 年,花蜜微生物在植物-传粉者双向互惠作用体系中的重要生态学功能引起了传粉生态学家的关注[27,83-84]。Herrera 等[83] 通过野外及室内控制实验发现一种铁筷子属植物(*Helleborus foetidus*)花蜜中接种海洋酵母菌(*Metschnikowia reukaufii*)后能够显著提高熊蜂对花的访问频率,但不利于该种植物的有性繁殖。不过,花蜜中接种细菌(*Gluconobacter* sp.)后降低了蜂鸟对沟酸浆(*Mimulus aurantiacus*)花的访问次数、花蜜移除量及座果率,从而减弱了植物-传粉者间的双向互惠作用[27]。Scharffer 和 Irwin[84] 的研究则表明飞燕草(*Delphinium nuttallianum*)花蜜中高密度的酵母菌促使传粉者(熊蜂和蜂鸟)吸食了更多的花蜜,同时增加了花粉的移除量,提高了该植物的雄性适合度。不过,熊蜂和蜂鸟为何偏爱访问花蜜中聚集高密度酵母菌的花的确切原因尚不明确。Pozo[45] 推测可能是因为传粉者的感官(嗅觉及触觉)因素,而 Herrera 等[83] 则推测可能是源于酵母菌对花蜜物理(温度、粘度)和化学(糖组成和浓度、氨基酸浓度)特征的改变。

聚集于花蜜中的微生物可以直接[34,83]或间接[27,83-84]影响宿主植物的繁殖适合度。Eisikowitch 等[34] 发现叙利亚马利筋(*Asclepias syriaca*)花蜜中的海洋酵母菌(*Metschnikowia reukaufii*)能够通过降低花蜜糖浓度而直接抑制花粉萌发和花粉管生长,进而使胚珠受精受阻。这一现象发生的原因是马利筋的蜜腺位于柱头室内,而蜜腺分泌的花蜜糖浓度必须维持在一定范围内才能保证柱头花粉的萌发和花粉管的生长。花蜜酵母菌抑制花粉萌发的现象也被 Herrera 等[83] 在铁筷子属植物(*Helleborus foetidus*)中发现。特别是,他们还观测到接种到铁筷子花蜜中的海洋酵母菌(*Metschnikowia reukaufii*)不利于铁筷子的雌性适合度,具体表现为花柱中的花粉管数目的减少,座果率、结实率及种子质量的降低。同时,Herrera 等[83] 的研究结果也为花蜜酵母菌通过

改变传粉者觅食模式而影响传粉成功提供了直接证据。然而,飞燕草(*Delphinium nuttallianum*)花蜜中的海洋酵母菌(*Metschnikowia reukaufii*)并未影响该植物的雌性适合度,即座果率、单果种子数及单株种子数与对照相比不存在差异[84]。但他们发现飞燕草花蜜中的海洋酵母菌增加了花粉输出,从而提高了飞燕草的雄性适合度。另一方面,Vannette 等[27]发现花蜜细菌而不是酵母菌减弱了沟酸浆(*Mimulus aurantiacus*)的雌性适合度。他们发现,花蜜中接种细菌(*Gluconobacter* sp.)的沟酸浆的每果种子数较未接种细菌的降低了约 18%,而海洋酵母菌并未显著影响沟酸浆的柱头闭合与每果种子数。因而,花蜜微生物对植物繁殖适合度的影响不仅取决于微生物对传粉者的影响[84],还取决于植物自身的特性(如花部形态、交配系统、繁殖构件及花粉限制等)[83]。

总结花蜜微生物对传粉者行为及植物繁殖适合度影响的研究可以发现,花蜜中的微生物群落影响传粉者行为、植物-传粉者间的互惠关系以及植物的繁殖适合度的原因除了降低提供给传粉者的报酬外,可能还存在以下可能:1)微生物在花蜜中的分布存在时空差异[51],特别是植物种内的差异会导致同种植物产生不同的花蜜报酬[14,51],从而可能导致该种植物面临失去规避风险传粉者提供传粉服务的危险[85];2)花蜜中的微生物能够发酵产生乙醇[86],这些乙醇可能会使传粉者"醉酒"而改变其觅食行为[71,82];3)花蜜微生物能够代谢产生各种香味[87],这些香味可能也会影响传粉者的访花行为[80]。不过,花蜜微生物影响花部气味的程度以及通过释放挥发性物质"过滤"传粉者的程度还有待研究。

5 展望

尽管已发表的研究表明了花蜜微生物的分布存在时空差异,花蜜微生物能够改变花蜜特征,且花蜜微生物在植物-传粉者互惠作用系统中起着重要的作用,但是作者认为至少还可以从以下 5 个方面对花蜜微生物及其生态功能进行进一步的研究与认识。

首先,对于微生物而言,花蜜是一个易受生物与非生物因素影响而处于不断变化的生境,因而花蜜微生物一定具有较广泛的生态位及高度的表型可塑性[88-89]。然而,迄今为止, 研究者对于花蜜中微生物(酵母菌和细菌)的表型分布却知之甚少。Pozo 等[31]的初步研究发现花蜜中的梅奇属酵母菌(*Metschnikowia reukaufii*, *M. gruessii*)具有较广泛的表型分布。除此之外,研究者还发现花蜜中的酵母菌虽然多以克隆方式进行繁殖,但却具有高度多样化的基因型[90-91]。因而,采用分子生物学手段研究花蜜微生物(酵母菌和细菌)的表型和基因型的多样性分布对研究花蜜微生物将具有重要的指导意义。

其次,目前关于花蜜微生物生态功能的研究主要集中在花蜜微生物群落对传粉者行为及植物繁殖适合度的影响,但花蜜微生物对其它访花昆虫(如非法盗密者、植物天敌及其它食蜜者)影响的研究尚未见报道。然而,与花蜜微生物参与到植物-传粉者互惠作用系统中类似,花蜜微生物也可能参与到植物-天敌及植物-害虫的相互作用系统中。考虑到害虫控制研究中生物防治方法(利用害虫捕食者及害虫寄生者)的广泛推广[92]和泌蜜植物能够为这些捕食者及寄生者提供糖类等能量来源[93-94]间的关联,推测对花蜜微生物生态功能的全面研究可能会提高农业耕作体系中的生物防治作用。从这种意义上说,如果微生物能够诱导植物的化学防御,则花蜜微生物可能对与植物相互作用的其它生物体(如盗蜜者、害虫或植食动物)产生关联或交互作用。由此看来,探究花蜜微生物对其它访花昆虫的影响将具有重要的生态学意义。

第三,传粉者吸食孕育微生物的花蜜后可能会影响自身适合度。众所周知,蜂在吸食花蜜后需要经消化道中的酶和微生物加工后才能吸收[95],而 Good 等[28]在蜂的口器及消化道中分离出了一些有助于加工多肽、多糖等大分子的花蜜微生物。此外,熊蜂比较偏爱吸食富含果糖的糖溶液,而某些花蜜酵母菌能够改变花蜜糖组成而使花蜜果糖浓度增加[45]。某些花蜜酵母菌可能也能为蜂提供所需的蛋白质和氨基酸[96]。由此看来,研究与传粉者相关的花蜜微生物有助于更好地了解植物-微生物-传粉者间的三元相互作用。

第四,为保证提供给传粉者高能量报酬的花蜜,泌蜜植物一定会进化出一系列抵御微生物侵染花蜜的机制[58,64]。已鉴定出的某些抗菌蛋白被认为可能会保护花蜜免受微生物侵染[61],如烟草花蜜中的某些蛋白质

会参与花蜜氧化还原循环。某些脂肪酶及 RNA 酶也出现在花蜜中,但其对花蜜微生物的抗菌效应还未进行测定[97]。研究者推测花蜜中的某些有毒次生化合物(生物碱、多酚、皂苷、非蛋白氨基酸、氨气、内酯及糖苷)可能具有抵御微生物侵染的作用[41-42,58],但这些化合物的抗菌效果还未完全证实。调查不同植物花蜜中抗菌蛋白与次级化合物的种类及含量,并在实验室条件下模拟花蜜条件来研究抗菌蛋白与次级化合物对花蜜微生物的毒性作用将有助于探究影响花蜜微生物多样性的可能机制。

最后,花蜜中常见的海洋酵母菌(*Metschnikowia reukaufii*)能够产生大量的挥发性化合物而使花蜜具有独特的气味[80]。由此推测花蜜微生物的代谢活动可能会影响花蜜对传粉者的“品尝前”吸引[98]。测定花蜜接种单一物种微生物、多种酵母菌或细菌及酵母菌与细菌混合菌前后的气味变化将为探究花蜜微生物影响植物-传粉者互惠作用的可能机制提供一定的研究基础。

总之,人们对于影响花蜜微生物群落形成因素的研究以及花蜜微生物的时空分布模式的研究还不够全面,特别是关于花蜜微生物对传粉者行为及植物-传粉者互惠关系影响的研究仍处于探索阶段。但可以肯定的是出现在花蜜中的微生物必定具有某些独有的生理特征使其能够在花蜜这种较“苛刻”的生境中存活并繁殖,且花蜜中的微生物一定在植物-传粉者这一二元作用系统及其它生物系统中具有某种重要的生态学功能。

参考文献(References):

[1] Werner E E, Peacor S D. A review of trait-mediated indirect interactions in ecological communities. Ecology, 2003, 84(5): 1083-1100.

[2] Abrams P A. Implications of dynamically variable traits for identifying, classifying and measuring direct and indirect effects in ecological communities. The American Naturalist, 1995, 146(1): 112-134.

[3] Wootton J T. Indirect effects and habitat use in an intertidal community: interaction chains and interaction modifications. The American Naturalist, 1993, 141(1): 71-89.

[4] Strauss S Y, Irwin R E. Ecological and evolutionary consequences of multispecies plant-animal interactions. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics, 2004, 35(1): 435-566.

[5] Strauss S Y, Connner J K, Rush S L. Foliar herbivory affects floral characters and plant attractiveness to pollinators: implication for male and female plant fitness. The American Naturalist, 1996, 147(6): 1098-1107.

[6] McCall A C, Irwin R E. Florivory: the intersection of pollination and herbivory. Ecology Letters, 2006, 9(12): 1351-1365.

[7] Irwin R E, Bronstein J L, Manson J S, Richardson L. Nectar robbing: ecological and evolutionary perspectives. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics, 2010, 41(1): 271-292.

[8] Cresswell J E, Hagen C, Woolnough J M. Attributes of individual flowers of *Brassica napus* L. are affected by defoliation but not by intraspecific competition. Annals of Botany, 2001, 88(1): 111-117.

[9] Theis N, Kesler K, Adler L S. Leaf herbivory increase floral fragrance in male but not female *Cucurbita pepo* subsp. *texana* (Cucurbitaceae) flowers. American Journal of Botany, 2009, 96(5): 897-903.

[10] Lehtilä K, Strauss S Y. Effects of foliar herbivory on male and female reproductive traits of wild radish, *Raphanus raphanistrum*. Ecology, 1999, 80(1): 116-124.

[11] Cozzolino S, Fineschi S, Litto M, Scopece G, Trunschke J, Schiestl F P. Herbivory increases fruit set in Silene latifolia: a consequence of induced pollinator-attracting floral volatiles?. Journal of Chemical Ecology, 2015, 41(7): 622-630.

[12] Baker H G, Baker I. Studies of nectar-constitution and pollinator-plant coevolution // Gilbert L E, Raven P H, eds. Coevolution of animals and plants. Austin, TX: University of Texas Press, 1975: 100-104.

[13] Adler L S, Bronstein J L. Attracting antagonists: does floral nectar increase leaf herbivory. Ecology, 2004, 85(6): 1519-1526.

[14] Herrera C M, García I M, Pérez R. Invisible floral larcenies: microbial communities degrade floral nectar of bumble bee-pollinated plant. Ecology, 2008, 89(9): 2369-2376.

[15] Betts A D. Nectar yeasts. The Bee World, 1920, 1: 252-253.

[16] Jimbo T. Yeasts isolated from flower nectar. Science Reports of the Tohoku Imperial University, 1926, 2: 161-187.

[17] Lund A. Studies on the ecology of yeasts. Haislund N, Trans.Copenhagen: Tubory Breweries, 1954.

[18] Brysch-Herzberg M. Ecology of yeasts in plant-bumblebee mutualism in Central Europe. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 50(2): 87-100.

[19] Álvarez-Pérez S, Lievens B, Jacquemyn H, Herrera C M. Acinetobacter nectaris sp. nov. and *Acinetobacter boissieri* sp. nov., two novel bacterial species isolated from floral nectar of wild Mediterranean insect-pollinated plants. International Journal of Systemetic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63(4): 1532-1539.

[20] Álvarez-Pérez S, Herrera C M, de Vega C. Zooming-in floral nectar: a first exploration of nectar-associated bacteria in wild plant communities. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 80(3): 591-602.

[21] Fridman S, Izhaki I, Gerchman Y, Halpern M. Bacterial communities in floral nectar. Environmental Microbiology Reports, 2012, 4(1): 97-104.

[22] Golonaka A M, Vilgalys R. Nectar inhabiting yeasts in Virginian populations of *Silene latifolia* (Caryophyllaceae) and coflowering species. The American Midland Naturalist, 2013, 169(2): 235-258.

[23] Herrera C M, de Vega C, Canto A, Pozo M I. Yeasts in floral nectar: a quantitative survey. Annals of Botany, 2009, 103(9): 1415-1423.

[24] Peay K G, Belisle M, Fukami T. Phylogenetic relatedness predicts priority effects in nectar yeast communities. Proceeding of the Royal Society B, 2012, 279(1729): 749-758.

[25] Pozo M J, de Vega C, Canto A, Herrera C M. Presence of yeasts in floral nectar is consistent with the hypothesis of microbial-mediated signaling in plant-pollinator interactions. Plant Signal & Behavior, 2009, 4(11): 1102-1104.

[26] de Vega C, Herrera C M. Microorganisms transported by ants induce changes in floral nectar composition of an ant-pollinated plant. American Journal of Botany, 2013, 100(4): 729-800.

[27] Vannette R L, Gauthier M P L, Fukami T. Nectar bacteria, but not yeast, weaken a plant-pollinator mutualism. Proceeding of the Royal Society B, 2013, 280(1752): 20122601.

[28] Good A P, Gauthier M P L, Vannette R L, Fukami T. Honey bees avoid nectar colonized by three bacterial species, but not by a yeast species, isolated from the bee gut. Plos One, 2014, 9(1): e86494.

[29] Lenaerts M, Álvarez-Pérez S, de Vega C, van Asschea A, Johnsond S D, Willemsa K A, Herrerac C M, Jacquemyne H, Lievensa B. *Rosenbergiella australoborealis* sp. nov., *Rosenbergiella collisarenosi* sp. nov. and *Rosenbergiella epipactidis* sp. nov., three novel bacterial species isolated from floral nectar. Systematic and Applied Microbiology, 2014, 37(6): 402-511.

[30] 陈林杨. 木本曼陀罗花蜜抗菌活性及其可培养微生物多样性比较研究[D].昆明:云南师范大学,2014:15-21.

[31] Pozo M I, Lievens B, Jacquemyn H. Impact of microorganisms on nectar chemistry, pollinator attraction and plant fitness. // Peck R L, ed. Nectar: Production, Chemical Composition and Benefits to Animals and Plants. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2014.

[32] Boutroux L. Sur la Conservation des ferments alcooliques dans la nature. Annales des Sciences Naturelles, Série Ⅳ, Botanique, 1884, 17: 145-209.

[33] Kevan P G, Eisikowitch D, Fowle S, Thomas K. Yeast-contaminated nectar and its effects on bee foraging. Journal of Apicultural Research, 1988, 27(1): 26-19.

[34] Eisikowitch D, Kevan P G, Lachance M A. The nectar-inhabiting yeasts and their effect on pollen germination in common milkweed. *Asclepias syriaca* L. Israel Journal of Botany, 1990, 39(1/2): 217-225.

[35] Álvarez-Pérez S, Herrera C M. Composition, richness and nonrandom assembly of culturable bacterial-microfungal communities in floral nectar of Mediterranean plants. FEMS Microbiology Ecology, 2013, 83(3): 685-699.

[36] Schaeffer R N, Phillips C R, Duryea M C, Andicoechea J, Irwin R E. Nectar yeasts in the tall larkspur *Delphinium barbeyi* (Ranunculaceae) and effects on components of pollinator foraging behavior. Plos One, 2014, 9(10): e108214.

[37] Canto A, Herrera C M, Medrano M, Pérez R, García I M. Pollinator foraging modifies nectar sugar composition in *Helleborus foetidus* (Ranunculaceae): An experimental test. American Journal of Botany, 2008, 95(3): 315-320.

[38] de Vega C, Herrera C M, Johnson S D. Yeasts in floral nectar of some South African plants: quantification and associations with pollinator type and sugar concentration. South African Journal of Botany, 2009, 75(4): 798-806.

[39] Pozo M I, Herrera C M, Bazaga P. Species richness of yeast communities in floral nectar of southern Spanish plants. Microbial Ecology, 2011, 61(1): 82-91.

[40] Pozo M I, Lachance M A, Herrera C M. Nectar yeasts of two southern Spanish plants: the roles of immigration and physiological traits in community assembly. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 80(2): 281-293.

[41] Aizenberg-Gershtein Y, Izhaki I, Halpern M. Do honeybees shape the bacterial community composition in floral nectar? Plos One, 2013, 8(7): e67556.

[42] Manson J S, Lachance M A, Thomson J D. *Candida gelsemii* sp. nov., a yeast of the Metschnikowiaceae clade isolated from nectar of the poisonous Carolina Jessamine. Antonie van Leeuwenhoek, 2007, 92(1): 37-52.

[43] Babjeva I P, Gorin S. About the spore formation and the life cycle of Metschnikowia pulcherrima and M. reukaufii in the nature. Bulletin of Moscow University, 1973, 5: 82-85.

[44] Sandhu D K, Waraich M K. Yeasts associated with pollinating bees and flower nectar. Microbial Ecology, 1985, 11(1): 51-58.

[45] Pozo M I. Yeasts in floral nectar: community ecology and interactions with insect pollinators and host plants [D]. Seville, Spain: University of Seville, Seville, 2012.

[46] Mittelbach M, Yurkov A M, Nocentini D, Nepi M, Weigend M, Begerow D. Nectar sugars and bird visitation define a floral niche for basisiomycetous yeast on the Canary Island. BMC Ecology, 2015, 15(1): 2.

[47] Jacquemyn H, Lenaerts M, Tyteca D, Lievens B. Microbial diversity in the floral netar of seven *Epipactis* (Orchidaceae) species. Microbiology Open, 2013, 2(4): 644-658.

[48] Mushtaq M, Jamal A, Nahar S. Biodiversity of yeast mycoflora in nectar of *Hibiscus rosa-sinensis* and *Ixora coccinea* flowers. Pakistan Journal of Botany, 2007, 39(4): 1367-1376.

[49] Belisle M, Peay K G, Fukami T. Flowers as islands: spatial distribution of nectar-inhabiting microfungi among plants of *Mimulus aurantiacus*, a

hummingbird-polloinated shrub. Microbial Ecology, 2012, 63(4): 711-718.

[50] Jacquemyn H, Lenaerts M, Brys R, Willems K, Honnay O, Lievens B. Among-population variation in microbial community structure in the floral nectar of the bee-pollinated forest herb *Pulmonaria officinalis* L. Plos One, 2013, 8(3): e56917.

[51] Pozo M I, Herrera C M, Alonso C. Spatial and temporal distribution patterns of nectar-inhabiting yeasts: how different floral microenvironments arise in winter-blooming Helleborus foetidus. Fungal Ecology, 2014, 11: 173-180.

[52] Schmitt A. The invisible communities of nectar: how yeast and bacteria alter nectar characteristics. The Duluth Journal of Undergraduate Biology, 2014, 1: 19-29.

[53] Samuni-Blank M, Izhaki I, Laviad S, Bar-Massada A, Gerchman Y, Halpern M. The role of abiotic environmental conditions and herbivory in shaping bacterial community composition in floral nectar. Plos One, 2014, 9(6): e99107.

[54] Halpern M, Fridman S, Atamna-Ismaeel N, Izhaki I. *Rosenbergiella* nectarea gen nov. sp. nov. in the family Enterobacteriaceae, isolated from floral nectar. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63(11): 4259-5265.

[55] Herrera C M, Canto A, Pozo M I, Bazaga P. Inhospitable sweetness: nectar filtering of pollinator-borne inocula leads to impoverished, phylogenetically clustered yeast communities. Proceedings of the Royal Society B, 2010, 277(1682): 747-754.

[56] Pozo M I, Herrera C M, Lachance M A, Verstrepen K, Lievens B, Jacquemyn H. Species coexistence in simple microbial communities: unraveling the phenotypic landscape of co-occuring Metschnikowia species in floral nectar. Environmental Microbiology, 2015, doi: 10.1111/1462-2920.13037.

[57] Nicolson S W, Thornburg R W. Nectar chemistry. // Nicolson S W, Nepi M, Pacini E, eds. Nectaries and Nectar. Netherlands: Springer, 2007. 215-264.

[58] Adler L S. The ecological significance of toxic nectar. Oikos, 2000, 91(3): 406-520.

[59] Kyung K H, Woo Y H, Kim D S, Park H J, Kim Y S. Antimicrobial activity of an edible wild plant, apiifolia Virgin's Bower (*Clematis apiifolia* DC). Food Science and Biotechnology, 2007, 16(6): 1051-1054.

[60] Pozo M I, Herrera C M, Van den Ende W, Verstrepen K, Lievens B, Jacquemyn H. The impact of nectar chemical features on phenotypic variation in two related nectar yeasts. FEMS Microbiology Ecology, 2015, 91(6): fiv055.

[61] Carter C, Healy R, Nicole M, O' Tool N M, Naqvi S M, Ren G, Park S, Beattie G A, Horner H T, Thornburg R W. Tobacco nectaries express a novel NADPH oxidase implicated in the defense of floral reproductive tissues against microorganisms. Plant Physiology, 2007, 143(1): 389-399.

[62] Nicolson S W. *Eucalyptus* nectar: production, availability, composition and osmotic consequences for the larva of the eucalypt nectar fly, *Drosophila flavohirta*. South African Journal of Science, 1994, 90(2): 75-79.

[63] Lievens B, Hallsworth J E, Pozo M I, Belgacem Z B, Stevenson A, Willems K A, Jacquemyn H. Microbiology of sugar-rich environments: diversity, ecology and system constraints. Environmental Microbiology, 2015, 17(2): 278-298.

[64] Carter C, Thornburg R. Is the nectar redox cycle a floral defense against microbial attack? Trends in Plant Science, 2004, 9(7): 320-324.

[65] Lachance M A. Yeast biodiversity: how many and how much? // Péter G, Rosa C, eds. Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. Berlin Heidelberg: Springer, 2006: 1-9.

[66] Corbet S A, Unwin D M, Prŷs-Jones O E. Humidity, nectar and insect visits to flowers, with special reference to *Crataegus*, *Tilia and Echium*. Ecological Entomology, 1979, 4(1): 9-22.

[67] Herrera C M. Microclimate and individual variation in pollinators: flowering plants are more than their flowers. Ecology, 1995, 76(5): 1516-1524.

[68] Freeman C E, Head K C. Temperature and sucrose composition of floral nectars in *Ipomopsis longiflora* under field conditions. The Southwestern Naturalist, 1990, 35(4): 423-526.

[69] Sánchez-Lafuente A M, Guitián J, Medrano M, Herrera C M, Rey P J, Cerdá X. Plant traits, environmental factors, and pollinator visition in winter-flowering Helleborus foetidus (Ranunculaceae). Annals of Botany, 2005, 96(5): 845-852.

[70] Deak T. Environmental factors influencing yeasts. // Péter G, Rosa C, eds. Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. Berlin Heidelberg: Springer, 2006: 155-174.

[71] Wiens F, Zitzmann A, Lachance M A, Yegles M, Pragst F, Wurst F M, von Holst D, Guan S L, Spanagel R. Chronic intake of fermented floral nectar by wild treeshrews. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(30): 10426-10431.

[72] Raguso R A. A wrapped Bouquet: the untapped potential of floral chemistry. Journal of Chemical Ecology, 2014, 40(5): 412-513.

[73] Herrera C M, Pozo M I. Nectar yeasts warm the flowers of a winter-blooming plant. Proceedings of the Royal Society B,, 2010, 277(1689): 1827-1834.

[74] Matiashe I, Mahara P, Marume P. Development of Lemon and lime nectar at Mazoe Citrus Estate, Zimbabwe. IOSR Journal of Engineering, 2014, 4(1): 51-60.

[75] Canto A, Herrera C M. Micro-organisms behind the pollination scenes: microbial imprint on floral nectar sugar variation in a tropical plant community. Annals of Botany, 2012, 110(6): 1173-1183.

[76] Raguso R A. Why are some floral nectars scented? Ecology, 2004, 85(6): 1486-1494.

[77] Goodrich K R, Zjhra M L, Ley C A, Raguso R A. When flowers smell fermented: the chemistry and ontogeny of yeasty floral scent in pawpaw (*Asimina triloba*: Annonaceae). International Journal of Plant Sciences, 2006, 167(1): 33-56.

[78] Nicolson S W, de Veer L, Köhler A, Pirk C W W. Honeybees prefer warmer nectar and less viscous nectar, regardless of sugar concentration.

Proceedings of the Royal Society B, 2013, 280(1767): 20131597.

[79] Raguso R A. Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2008, 39: 549-569.

[80] Golonka A M, Obi Johnson B, Freeman J, Hinson D W. Impact of nectarivorous yeasts on *Silene caroliniana*'s scent. Eastern Biologist, 2014, 3: 1-26.

[81] Canto A, Pérez R, Medrano M, Castellanos M C, Herrera C M. Intraplant variation in nectar sugar composition in two *Aquilegia* species (Ranunculaceae): contrasting patterns under field and glasshouse conditions. Annals of Botany, 2007, 99(4): 653-660.

[82] Ehlers B K, Olesen J M. The fruit-wasp route to toxic nectar in Epipactis orchids? Flora, 1997, 192(3): 223-229.

[83] Herrera C M, Pozo M I, Medrano M. Yeasts in nectar of an early-blooming herb: sought by bumblebees, detrimental to plant fecundity. Ecology, 2013, 94(2): 273-279.

[84] Schaeffer R N, Irwin R E. Yeasts in nectar enhance male fitness in a montane perennial herb. Ecology, 2014, 95(7): 1792-1798.

[85] Biernaskie J M, Cartar R V, Hurly T A. Risk-averse inflorescence departure in hummingbirds and bumble bees: could plants benefit from variable nectar volumes? Oikos, 2002, 98(1): 98-104.

[86] Lin Y, Tanaka S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 69(6): 627-642.

[87] Swiegers J H, Bartowsky E J, Hensehke P A, Pretorius I S. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2005, 11(2): 139-173.

[88] Roughgarden J. Evolution of niche width. The American Naturalist, 1972, 106(952): 683-718.

[89] Baythavong B S. Linking the spatial scale of environmental variation and the evolution of phenotypic plasticity: selection favors adaptive plasticity in fine-grained environments. The American Naturalist, 2011, 178(1): 75-87.

[90] Herrera C M, Pozo M I, Bazaga P. Nonrandom genotype distribution among floral hosts contributes to local and regional genetic diversity in the nectar living yeast *Metschnikowia reukaufii*. FEMS Microbiology Ecology, 2014, 87(3): 568-575.

[91] Herrera C M. Population growth of the floricolous yeast *Metschnikowia reukaufii*: effects of nectar host, yeast genotype and host × genotype interaction. FEMS Microbiology Ecology, 2014, 88(2): 250-257.

[92] Bale J S, Van Lenteren J C, Bigler F. Biological control and sustainable food production. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 2008, 363(1492): 761-776.

[93] Zender G, Gurr G M, Kuhne S, Kühne S, Wade M R, Wratten S D, Wyss E. Arthropod pest management in organic crops. Annual Review of Entomology, 2007, 52: 57-80.

[94] Johnson M, Wratten S D, Landis D A, Gurr G M. Recent advances in conservation biological control of arthropods by arthropods. Biological Control, 2008, 45(2): 172-175.

[95] Lee F J, Rusch D B, Stewart F J, Mattila H R, Newton I L G. Saccharide breakdown and fermentation by the honey bee gut microbiome. Environmental Microbiology, 2015, 17(3): 796-815.

[96] Somerville D. Fat bees skinny bees: a manual on honey bee nutrition for beekeepers. Goulburn: NSW Department of Primary Industries, 2005.

[97] Nepi M. Beyond nectar sweetness: the hidden ecological role of non-protein amino acids in nectar. Journal of Ecology, 2014, 102(1): 108-115.

[98] González-Teuber M, Heil M. Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. Plant Signaling & Behavior, 2009, 4(9): 809-813.